Sur l'origine des vacuoles et de l'anthocyane dans les feuilles du Rosier

PAR M. PIERRE DANGEARD.

Le problème de la formation des pigments anthocyaniques chez les végétaux est assurément complexe si l'on en juge par la diversité des solutions proposées. On s'en rendra compte en parcourant les revues consacrées à ce sujet [1], et où l'on trouvera une excellente bibliographie.

M. Raoul Combes ayant, en 1913, obtenu un produit rouge par réduction d'une matière jaune (flavone) extraite des feuilles de Vigne vierge avant le rougissement, conclut à la formation de l'anthocyane par un procédé de réduction.

Une autre opinion bien plus ancienne, et soutenue par de nombreux auteurs, consiste à faire dériver l'anthocyane de composés incolores ou jaunâtres (tannins, composés phénoliques et glucosidiques) par oxydation de ces corps. Quelques observations récentes plaident en faveur de cette dernière théorie [2].

Dans l'une et l'autre interprétation chimique du rougissement, on suppose ordinairement qu'il existe un corps incolore ou jaune préexistant qui subira la transformation, soit par réduction, soit par oxydation.

Cependant il y aurait des exceptions à cette règle et M. Raoul Combes a été amené, par ses expériences, à penser que l'anthocyane peut apparaître directement dans certains cas, par exemple chez le *Cobæa scandens* : « Le pigment anthocyanique, écrit-il, composé glucosidique, se forme de toutes pièces dans la fleur du *Cobæa scandens*, puisque c'est seulement lorsqu'il apparaît que l'analyse met en évidence la présence de

1. BEAUVERIE, *L'état actuel de la question de l'anthocyanine* (Rev. génér. Sc., 30 oct. et 15 nov. 1918). — COSTANTIN (J.), *Physiologie de l'anthocyane et chimie de la chlorophylle* (Ann. des Sc. Nat. Bot., s. 1919).

2. KOSLOWSKI (A.), *Formation du pigment rouge de* Beta vulgaris *par oxydation des chromogènes* (C. R. Ac. des Sc., CLXXIII, p. 835, 1921).

glucosides dans les tissus. Il ne peut résulter de la modification d'un glucoside préexistant, puisque l'analyse montre qu'il n'existe pas de glucoside dans la corolle avant son apparition [1]. » Ces idées sur l'origine de l'anthocyane ont influé sur les travaux des histologistes qui ont essayé de résoudre le problème par leurs méthodes.

Tout d'abord la formation de l'anthocyane fut attribuée à des mitochondries [2], mais les recherches postérieures de M. P.-A. Dangeard firent voir que les éléments d'aspect mitochondrial qui se coloraient par l'anthocyane, n'étaient que des stades de l'appareil vacuolaire [3] et changèrent profondément les idées sur le métabolisme cellulaire. Du point de vue microchimique les recherches qui ont été faites jusqu'à présent sont en faveur d'une dualité du processus formateur de l'anthocyane. Tantôt cette substance apparaîtrait directement, formée de toutes pièces dans les éléments les plus jeunes, tantôt elle résulterait de la transformation de composés phénoliques incolores. Ce sont là, en somme, des conclusions semblables à celles de M. R. Combes [4].

Nous avons voulu à notre tour apporter une contribution à la connaissance du mode de formation de l'anthocyane et nous avons repris l'étude du Rosier qui avait déjà été l'objet des travaux de nos prédécesseurs (Guilliermond, Dangeard, Pensa, Löwschin).

Nous étions guidé dans cette étude par une observation précédente qui nous avait montré que l'épiderme d'une plantule de Pin maritime devient tannifère avant de se pigmenter par l'anthocyane [5].

1. COMBES (R.), *Le processus de formation des pigments anthocyaniques* (Rev. génér. Bot., XXV *bis*, 1914).

2. GUILLIERMOND (A.), *Recherches cytologiques sur le mode de formation des pigments anthocyaniques. Nouvelle contribution à l'étude des mitochondries* (Rev. génér. Bot., XXV *bis*, 1914).

3. DANGEARD (P.-A.), *Note sur la formation des pigments anthocyaniques* (Bull. Soc. bot. Fr., 1916).

4. GUILLIERMOND (A.), *Sur les éléments figurés du cytoplasme chez les végétaux; chondriome, appareil vacuolaire et granulations lipoïdes* (Arch. Biol., XXXI, p. 82).

5. DANGEARD (P.), *L'évolution des grains d'aleurone en vacuoles ordinaires pendant la germination du Pin maritime* (Bull. Soc. bot. Fr., LXVIII, p. 223, 1921).

La formation du pigment, dans l'évolution des cellules épidermiques que nous avions suivie à partir de l'embryon, ne nous apparaissait que comme une phase de l'évolution chimique du vacuome succédant à la formation des tannins.

Ne pouvait-on constater dans les feuilles du Rosier une série de phénomènes comparables? Remarquons que les auteurs qui nous ont précédés ne semblent pas avoir observé de très jeunes

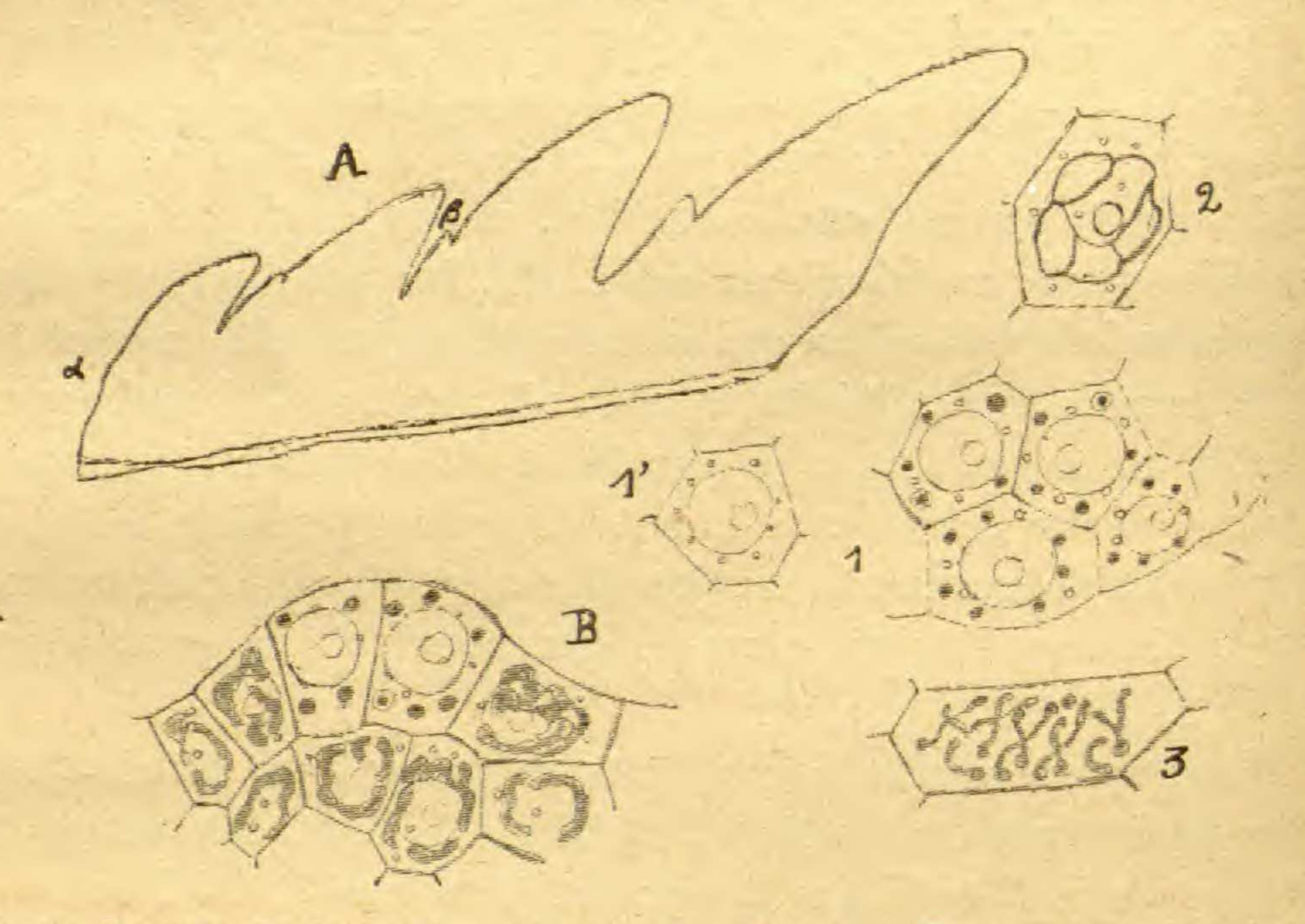


Fig. A. Portion de la bordure dentée d'une foliole très jeune de Rosier; dents primaires et dents secondaires à divers états de développement. — Fig. B. Ébauche d'une dent, correspondant au point α de la figure A; deux cellules embryonnaires entourées de cellules tannifères (coloration vitale au rouge neutre). 1, Groupe de quatre cellules embryonnaires colorées vitalement (noyau, microsomes, vacuoles); 1', cellule embryonnaire *in vivo* (microsomes seuls visibles); 2, Réseau vacuolaire réfringent à tannins; 3, Filaments vacuolaires colorés par l'anthocyane.

feuilles. Ils ont décrit surtout les phénomènes de pigmentation dans les dents ou dans le limbe d'une feuille assez âgée. Enfin ils n'ont pas fait de colorations vitales. M. Guilliermond a été ainsi conduit à admettre que les éléments filamenteux qu'il observe au sommet des dents, sont les états les plus jeunes des vacuoles (primordia des vacuoles), et lorsque ces éléments se montrent colorés par l'anthocyane, il conclut à la formation de toutes pièces de cette substance [1].

1. GUILLIERMOND (A.), *loc. cit.*

Mais à vrai dire, il est possible de trouver des feuilles assez jeunes pour que les dents qui commencent à se dessiner sur les bords du limbe soient dépourvues non seulement d'anthocyane, mais même de composés tanniques. Le vacuome de leurs cellules ne réduit pas l'acide osmique, et son contenu ne se précipite pas sous l'action du bichromate de potasse. Sur le vivant, on ne reconnaît dans ces cellules qu'un gros noyau, un cytoplasme homogène et de petits microsomes (fig. 1).

Dans quelques cas favorables, on distingue également de très petites vacuoles rondes très peu réfringentes : mais il faut une coloration vitale pour les mettre en évidence avec une grande netteté. Ce sont des petites vacuoles sphériques, à peine plus grosses que les microsomes et qui peuvent, soit se colorer d'une façon homogène, soit précipiter leur contenu sous forme d'un grain coloré au sein de la minuscule vacuole (fig. 1). La substance dont elles sont formées se colore en jaune orangé avec le rouge neutre et a, par conséquent, une réaction basique.

Ces caractères du vacuome dans les très jeunes dents, montrent que les cellules qui les composent sont de véritables cellules embryonnaires par rapport aux autres éléments de l'épiderme. On en trouve de semblables dans le limbe, où elles forment, lorsque la feuille est plus âgée, de petits ilots entourés par les cellules à tannin : ce sont des zones où la multiplication est particulièrement active. Ces cellules embryonnaires n'ont pas été distinguées dans les écrits antérieurs ce qui peut s'expliquer à cause de leur contenu hyalin, difficile à différencier, et parce que les vacuoles y sont à peu près indiscernables sans coloration vitale.

Il est d'ailleurs bien plus difficile d'obtenir une coloration pour ces cellules que pour les éléments tannifères. Dans un travail récent où M. Guilliermond reprend l'étude du Rosier il abandonne ses idées anciennes et admet maintenant l'origine de l'anthocyane aux dépens du système vacuolaire : incidemment il signale sans en tirer aucune conclusion que dans certains

1. Guilliermond (A.), *loc. cit.*

cas le sommet des dents est occupé par des cellules dont les vacuoles sont à peine filamenteuses, très peu réfringentes et ne semblent pas contenir de produits tanniques.

La situation de ces éléments embryonnnaires est telle que leur rôle dans le développement de la feuille et de ses dents est facile à comprendre.

Lorsqu'une dent s'accroît en longueur, il existe au sommet quelques-unes de ces cellules, et on en trouve aussi par groupes en son milieu et à sa base. Quand une nouvelle dent se développe, elle commence toujours à grandir aux dépens de quelques cellules embryonnaires situées à la base d'une dent déjà formée et qui se multiplient pour donner naissance à un petit mamelon, constitué d'abord uniquement de cellules sans tannin (fig. B). C'est plus tard seulement que ce produit apparaît dans beaucoup de cellules (fig. C).

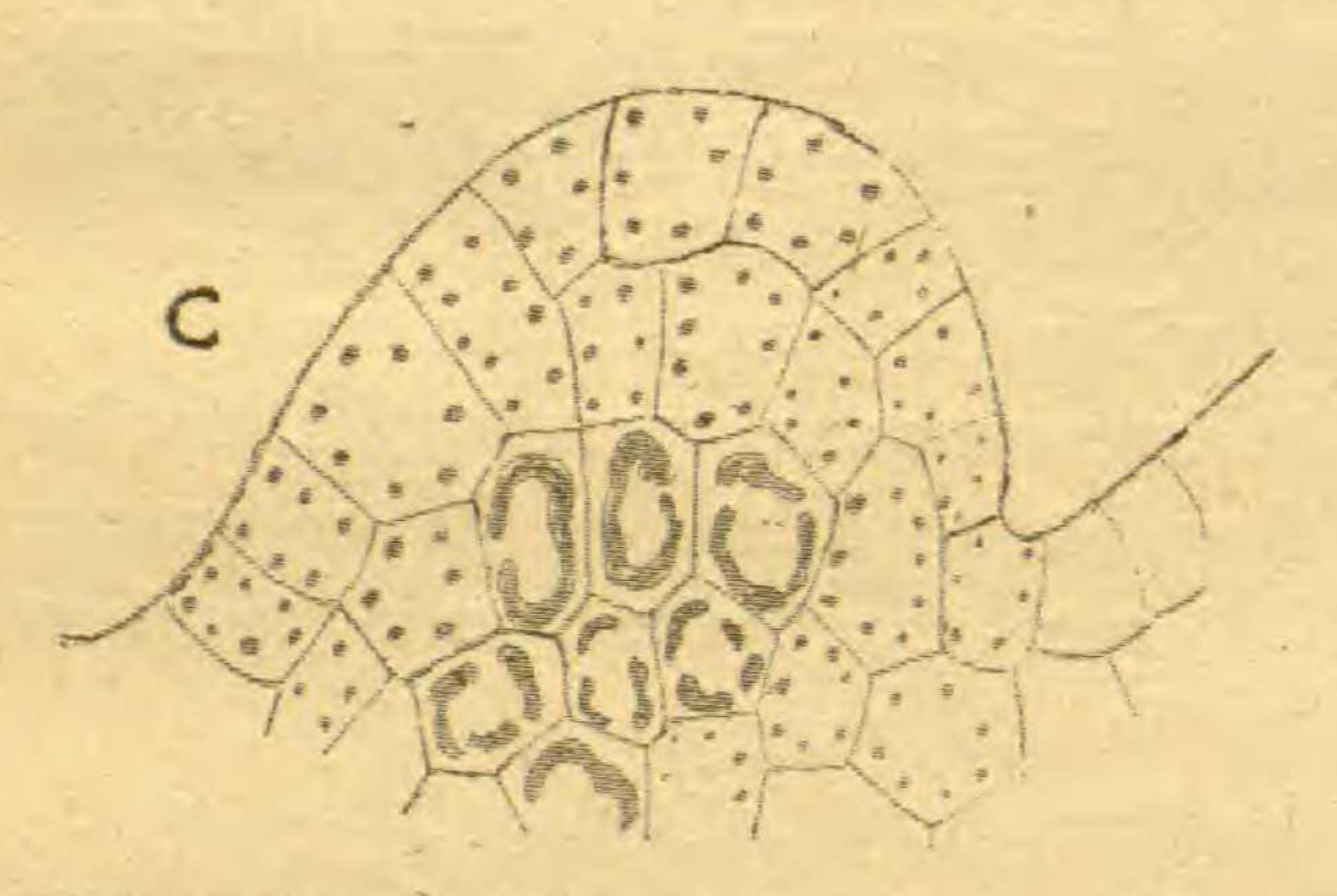


Fig. C. Ébauche d'une jeune dent en forme de mamelon correspondant à l'état figuré en B sur la figure A. Le vacuome a été seul représenté dans les cellules. Au sommet de la dent, éléments arrondis, très petits, métachromatiques (métachromes). A la base, éléments vacuolaires filamenteux non métachromatiques (vacuoles tanifères).

L'évolution en cellule sécrétrice a lieu de la façon suivante : les petites vacuoles des cellules embryonnaires s'allongent et peuvent se disposer en filaments ou en réseaux (fig. 2) avant de se transformer en grosses vacuoles normales. Ces éléments prennent une réaction acide et le rouge neutre les colore en rouge brique, puis plus tard en rose. En même temps les filaments deviennent réfringents et bien visibles dans les cellules vivantes. L'on reconnaît à leur intérieur, au moyen des réactifs, la présence de composés phénoliques.

Enfin dans une dernière phase de l'anthocyane apparaît et, comme sa formation se fait aussi bien dans les cellules qui ont déjà de grandes vacuoles que dans celles qui ont des vacuoles filamenteuses, on pourrait croire à une élaboration par deux

procédés différents, mais en réalité dans un cas comme dans l'autre il y a des composés phénoliques préexistants.

Les observations que nous rapportons ont été faites sur plusieurs variétés de Rosier à feuilles rouges et nous avons examiné de très nombreuses feuilles à tous les états de développement et pendant toutes les saisons de l'année. La végétation du Rosier s'arrête très peu de temps et il est possible presque à toutes les époques d'étudier des bourgeons en voie de croissance.

Nous avons combiné la plupart du temps l'observation *in vivo*, sans aucun réactif, avec l'observation des mêmes cellules traitées par les réactifs divers ou par les colorants vitaux, ce qui nous permet de conclure ainsi :

1° Les éléments filamenteux d'aspect mitochondrial, des jeunes feuilles du Rosier, renferment, lorsqu'ils sont réfringents et bien visibles sur le frais, une notable proportion de composés phénoliques et, lorsque l'anthocyane apparaît dans les éléments filamenteux au sommet d'une dent, elle ne fait que succéder aux composés du tannin : en effet les dents renferment toujours des cellules tannifères avant leur rougissement et celui-ci n'a lieu que dans ces cellules.

2° Les éléments filamenteux sont toujours précédés par des éléments vacuolaires arrondis qui sont difficiles à voir sur le frais et qui ne renferment jamais de composés phénoliques ni d'anthocyane. Ces petites vacuoles ont une réaction nettement basique qui suffirait, en dehors de leur forme, à les distinguer des éléments sécréteurs qui en dérivent et qui ont une réaction acide.

3° Les éléments filamenteux des folioles du Rosier, désignés par M. Guilliermond sous le nom de « primordia » des vacuoles, n'ont pas les caractères de primordia au sens étymologique, puisqu'ils sont précédés par de petites vacuoles à contenu épais, basique et métachromatique (métachromes de M. P.-A. Dangeard).

4° Enfin les résultats de nos recherches ne nous permettent pas d'admettre un mode de formation de l'anthocyane qui aurait lieu par deux procédés, l'un direct, l'autre indirect, puisque nous avons montré que l'anthocyane ne se forme

jamais de toutes pièces. Cette substance apparaît dans le vacuome, à la suite des composés phénoliques et son élaboration est probablement liée d'une façon très intime aux transformations de ces derniers corps qui sont si fréquents dans les vacuoles des végétaux.